

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO–MATEMATIČKI FAKULTET
MATEMATIČKI ODSJEK

Tamara Falak

MATEMATIČKI MODELI U BIOKEMIJI

Diplomski rad

Voditelj rada:
izv. prof. dr. sc. Igor Pažanin

Zagreb, srpanj 2014.

Ovaj diplomski rad obranjen je dana _____ pred ispitnim povjerenstvom u sastavu:

1. _____, predsjednik
2. _____, član
3. _____, član

Povjerenstvo je rad ocijenilo ocjenom _____.

Potpisi članova povjerenstva:

1. _____
2. _____
3. _____

Sadržaj

Sadržaj	iii
Uvod	1
1 Matematičko modeliranje i diferencijalne jednačbe	2
1.1 Matematički modeli	2
1.2 Obične diferencijalne jednačbe	3
1.3 Osnovni pojmovi teorije stabilnosti	7
1.3.1 Stabilnost linearnih sustava	8
1.3.2 Stabilnost nelinearnih sustava	9
2 Zakon o djelovanju masa	10
3 Kinetika enzima	13
3.1 Kompetitivna inhibicija	17
3.2 Alosterička (nekompetitivna) inhibicija	20
3.3 Kooperativnost	24
3.3.1 Nezavisna aktivna mjesta (nema kooperativnosti)	27
3.3.2 Jaka kooperativnost	27
Bibliografija	30

Uvod

Biokemija je kemija života, most između biologije i kemije koji proučava kako složene kemijske reakcije stvaraju život. Biokemija je hibridni dio kemije koji konkretno proučava kemijske procese u živim organizmima. Vjerojatno se prva primjena biokemije dogodila otprilike prije 5000 godina kada je korištenjem kvasca napravljen kruh. Ipak, moderna biokemija je imala sporije početke u usporedbi s drugim znanostima. Newtonova publikacija "Principia Mathematica" iz 1687. godine prethodila je za skoro 200 godina Darwinovoj "Porijeklo vrsta" iz 1859. što je začinjavalo jer su Darwinove ideje u mnogoj mjeri jednostavnije od Newtonove matematičke teorije.

Ono što objašnjava ovo zakašnjenje jest fundamentalni konflikt između znanosti i religije tog vremena. Fizikalne znanosti su osjetile ovaj konflikt vrlo rano, no konflikt između religije i evolucijske biologije nastavlja se sve do danas. Napredak u biokemiji je kasnio i radi dugotrajnog vjerovanja da život nije podređen zakonima znanosti kao što neživa tvar jest, te da samo živa bića mogu stvoriti "molekule života". Konačno, 1928. godine Friedrich Wohler je objavio svoj ključni rad o sintezi uree, pokazavši po prvi puta kako organske tvari mogu biti sintetizirane na umjetan način.

U ovom radu predstaviti ćemo matematičke modele nekih važnih biokemijskih reakcija. Konstrukcija takvih modela iziskuje detaljnu analizu uključenih mehanizama koja dovodi do boljeg razumijevanja kompleksnih biokemijskih procesa.

Rad je podijeljen na tri poglavlja. U Poglavlju 1 upoznat ćemo se s pojmom matematičkog modeliranja, običnim diferencijalnim jednadžbama te sustavima običnih diferencijalnih jednadžbi. Zatim ćemo, u Poglavlju 2, uvesti vrlo koristan model za kemijske reakcije: zakon o djelovanju masa. U Poglavlju 3 prezentirati ćemo modele vjerojatno najvažnijih biokemijskih reakcija - onih kataliziranih enzimima. Modeli koje ćemo izvesti su determinističke prirode i zapisati ćemo ih pomoću jednostavnih sustava običnih diferencijalnih jednadžbi.

Glavnina rada napisana je prema J.R.Chasnov, *Mathematical Biology*, Lecture Notes, The Hong Kong University of Science and Technology, 2009.

Poglavlje 1

Matematičko modeliranje i diferencijalne jednačbe

Matematičko modeliranje je postupak opisivanja realnog sustava matematičkim jednačbama s ciljem razvoja i uporabe matematičkog modela za kasnije analize, projektiranja i optimiziranja sustava za izrađeni model. Modeliranje ne mora nužno riješiti problem, ali će vjerojatno rasvijetliti i pojasniti promatranu situaciju.

1.1 Matematički modeli

Kako bismo objasnili matematičke modele nekih biokemijskih reakcija, objasniti ćemo njihovo značenje i važnost.

Riječ model ima puno definicija koje opisuju njeno značenje i toliko je često u upotrebi da je ponekad teško razaznati njeno značenje. Model je možda najjednostavnije definirati kao približan prikaz stvarnog sustava ili procesa. Konceptualni model je hipotetski prikaz načina na koji neki sustav ili proces djeluju. Ta hipoteza kvantitativno se može prikazati kao matematički model. Matematički modeli na apstraktan način prikazuju procese kroz jednačbe, a fizička svojstva kroz konstante ili koeficijente. Karakterizacija stanja ili njihov potencijal u sustavu se predstavljaju kao varijable.

Većina matematičkih modela, koji su danas u upotrebi, su determinističkog karaktera. Deterministički modeli se temelje na zakonu očuvanja mase, količine gibanja i energije te prikazuju uzročno - posljedične veze. Temeljna pretpostavka je da postoji visoki stupanj razumijevanja o procesima koji djeluju u sustavu te je moguće unaprijed odrediti reakcije sustava na bilo koji skup djelovanja [4]. Deterministički modeli uglavnom iziskuju potrebu rješavanja diferencijalnih jednažbi. Matematičke modele biokemijskih reakcija koje ćemo mi proučavati, opisivat ćemo pomoću sustava običnih diferencijalnih jednažbi.

1.2 Obične diferencijalne jednačbe

Diferencijalne jednačbe se pojavljuju kao matematički modeli u rješavanju važnih prirodnih i tehničkih problema. Pomoću diferencijalnih jednačbi se opisuju problemi, kod kojih, na temelju trenutnog stanja i načina na koji se nešto mijenja, želimo predvidjeti rezultat. Diferencijalna jednačba je bilo koja jednačba koja analitičkim zapisom povezuje nepoznatu funkciju, nezavisnu varijablu (ili nezavisne varijable) i derivacije nepoznate funkcije. Diferencijalna jednačba naziva se obična diferencijalna jednačba, ako je u njoj nepoznata funkcija, funkcija samo jedne varijable.

Definicija 1.2.1. *Obična diferencijalna jednačba je jednačba u kojoj je nepoznanica funkcija samo jedne varijable, a koja opisuje vezu između te funkcije i njenih derivacija za proizvoljnu vrijednost varijable funkcije [6].*

Dakle to je jednačba oblika:

$$F(t, y, y', \dots, y^{(n)}) = 0,$$

gdje F predstavlja neki izraz koji povezuje varijablu t s o njoj ovisnom nepoznatom funkcijom y i njenim derivacijama $y, y', \dots, y^{(n)}$.

Red (stupanj) diferencijalne jednačbe je red najviše derivacije nepoznate funkcije koja se u njoj pojavljuje: red jednačbe $F(t, y, y', \dots, y^{(n)}) = 0$ je n . Grubo govoreći, rješenje takve jednačbe na intervalu I je funkcija $y : I \rightarrow \mathbb{R}$ čije uvrštavanje u jednačbu daje istinitu jednakost za svaku vrijednost varijable $t \in I$.

Sustavi običnih diferencijalnih jednačbi sastoje se od više običnih diferencijalnih jednačbi koje opisuju vezu između nekoliko nepoznatih funkcija y, z, \dots s istom varijablom t i njihovih prvih (i eventualno viših derivacija) y', z', \dots .

Neka su funkcije $f_i(t, x_1, \dots, x_N)$, $i = 1, 2, \dots, n$ definirane na području $G \subset \mathbb{R}^{N+1}$, $m_i \in \mathbb{N}$, $i = 1, 2, \dots, n$ i $m_1 + m_2 + \dots + m_n = N$.

Definicija 1.2.2. *Skup jednačbi*

$$x_i^{m_i} = f_i(t, x_1, x_1', \dots, x_1^{m_1-1}, \dots, x_n, x_n', \dots, x_n^{m_n-1}), \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (1.1)$$

nazivamo sustavom diferencijalnih jednačbi reda N .

Prvi specijalni slučaj sustava (1.1), za $m_1 = m_2 = \dots = m_n = 1$, daje nam tzv. normalni ili obični sustav diferencijalnih jednačbi

$$x_i' = f_i(t, x_1, x_2, \dots, x_n), \quad i = 1, 2, \dots, n. \quad (1.2)$$

Drugi specijalan slučaj, za $n = 1$, je diferencijalna jednačba m – tog reda

$$x^{(m)} = f(t, x, x', \dots, x^{m-1})$$

Definicija 1.2.3. Skup funkcija $x_i = \varphi_i(t)$, $i = 1, 2, \dots, n$ definiranih na intervalu $I \subset \mathbb{R}$ nazivamo rješenjem sustava jednačbi (1.1), ako vrijedi:

1. $\varphi_i \in C^{m_i}(I)$, $i = 1, 2, \dots, n$;
2. $(\forall t \in I) : (t, \varphi_1(t), \varphi_1'(t), \dots, \varphi_1^{m-1}(t), \dots, \varphi_n(t), \varphi_n'(t), \dots, \varphi_n^{m-1}(t)) \in G$;
3. $(\forall t \in I, \forall i \in 1, 2, \dots, n) :$
 $\varphi_i^{m_i}(t) = f_i(t, \varphi_1(t), \varphi_1'(t), \dots, \varphi_1^{m-1}(t), \dots, \varphi_n(t), \varphi_n'(t), \dots, \varphi_n^{m-1}(t)).$

Uvedimo sada pojam integralne krivulje sustava običnih diferencijalnih jednačbi. Neka su funkcije $f_1(t, X), \dots, f_n(t, X)$ definirane na području $G \subseteq \mathbb{R}_{tX}^{n+1}$, $X = (x_1, x_2, \dots, x_n)$.

Definicija 1.2.4. Ako je $x_1 = \varphi_1(t)$, $x_2 = \varphi_2(t)$, \dots , $x_n = \varphi_n(t)$, $t \in I$ rješenje sustava jednačbi (1.2), tada krivulju $t = t$, $x_1 = \varphi_1(t)$, $x_2 = \varphi_2(t)$, \dots , $x_n = \varphi_n(t)$, $t \in I$ u $(n + 1)$ - dimenzionalnom prostoru \mathbb{R}_{tX}^{n+1} , nazivamo integralnom krivuljom sustava jednačbi (1.2).

Neka je $(t_0, x_1^0, \dots, x_n^0) \in G$. Pridružimo li sustavu jednačbi (1.2) početne uvjete

$$x_1(t_0) = x_1^0, x_2(t_0) = x_2^0, \dots, x_n(t_0) = x_n^0 \quad (1.3)$$

tada (1.2) - (1.3) zovemo Cauchyjevim (početnim, inicijalnim) problemom (zadaćom) za obični sustav jednačbi.

Funkcije $x_i = \varphi_i(t)$, $i = 1, 2, \dots, n$ će biti rješenje problema (1.2) - (1.3) ukoliko je $\varphi_1, \varphi_2, \dots, \varphi_n$ rješenje sustava (1.2) i ukoliko vrijedi:

$$\varphi_1(t_0) = x_1^0, \quad \varphi_2(t_0) = x_2^0, \quad \dots, \quad \varphi_n(t_0) = x_n^0$$

Sustav (1.2) moguće je preglednije zapisati u vektorskom obliku. Zaista je $X = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ i $F(t, X) = (f_1(t, X), f_2(t, X), \dots, f_n(t, X))^T$. Sada sustav jednačbi (1.2) ima oblik

$$X' = F(t, X). \quad (1.4)$$

U skladu s tim, vektorska funkcija $X = (\varphi_1(t), \dots, \varphi_n(t))$, $t \in I$ je rješenje sustava jednačbi (1.4) ako je:

1. $\varphi(t)$ neprekidno diferencijabilna funkcija za svako $t \in I$;
2. $(\forall t \in I)(t, \varphi(t)) \in G$;
3. $(\forall t \in I), \varphi'(t) \equiv F(t, \varphi(t))$.

Cauchyjev problem glasi: za zadanu točku $(t_0, x_0) \in G$ odredi rješenje $X = \varphi(t)$, $t \in G$ koje zadovoljava početni uvjet $\varphi(t_0) = X_0$.

Sustav običnih diferencijabilnih jednadžbi prvog reda (s nepoznatim funkcijama x_1, x_2, \dots, x_n) je sustav oblika

$$\begin{aligned}x'_1 &= a_{11}tx_1 + a_{12}tx_2 + \dots + a_{1n}tx_n + b_1(t), \\x'_2 &= a_{21}tx_1 + a_{22}tx_2 + \dots + a_{2n}tx_n + b_2(t), \\&\vdots \\x'_n &= a_{n1}tx_1 + a_{n2}tx_2 + \dots + a_{nn}tx_n + b_n(t).\end{aligned}$$

U vektorskom obliku sustav možemo zapisati kao

$$X' = A(t)X + B(t),$$

gdje je

$$A(t) = \begin{bmatrix} a_{11}(t) & a_{12}(t) & \dots & a_{1n}(t) \\ a_{21}(t) & a_{22}(t) & \dots & a_{2n}(t) \\ \vdots & & & \\ a_{n1}(t) & a_{n2}(t) & \dots & a_{nn}(t) \end{bmatrix},$$

$$B(t) = \begin{bmatrix} b_1(t) \\ b_2(t) \\ \vdots \\ b_n(t) \end{bmatrix}.$$

Kažemo da se radi o sustavu s konstantnim koeficijentima ako su sve a_{ij} konstantne funkcije, tj. ako je A matrica brojeva ($A \in M_n$).

Sustav je homogen ako je B nul - matrica. Homogeni sustavi sigurno imaju trivijalno rješenje u kojem su svi x_i nul - funkcije.

Neka je $\mathbb{D} \in \mathbb{R}_{tX}^{n+1}$ područje egzistencije i jedinstvenosti rješenja¹ sustava (1.4).

¹Vidi [1].

Definicija 1.2.5. Funkciju $X = \varphi(t, C)$, $t \in I$, $C = (C_1, C_2, \dots, C_n)$, gdje su C_1, C_2, \dots, C_n parametri, nazivamo općim rješenjem sustava jednadžbi (1.4) na području $\mathbb{E} \in \mathbb{D}$, ako za proizvoljnu točku $(t_0, X_0) \in \mathbb{E}$ sustav jednadžbi $X_0 = \varphi(t_0, C)$ ima jedinstveno rješenje C_0 ($C_0 = C_1^0, C_2^0, \dots, C_n^0$), takvo da je funkcija $X = \varphi(t, C_0)$ rješenje sustava jednadžbi (1.4) koje zadovoljava početni uvjet $\varphi(t_0, C_0) = X_0$.

Definicija 1.2.6. Neprekidnu funkciju $U(t, X) : \mathbb{D} \rightarrow \mathbb{R}$ nazivamo prvim integralom sustava jednadžbi (1.4), ako za svako rješenje $X = \varphi(t)$, $t \in I$ sustava jednadžbi (1.4) vrijedi jednakost $U = (t, \varphi(t)) \equiv \text{const}$, $t \in I$.

1.3 Osnovni pojmovi teorije stabilnosti

Promotrimo sustav običnih diferencijabilnih jednadžbi oblika $\frac{dx}{dt} = f(t, X)$ gdje je

$$X = \begin{bmatrix} x_1(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{bmatrix} \quad (1.5)$$

i

$$f(t, X) = \begin{bmatrix} f_1(t, x_1, \dots, x_n) \\ \vdots \\ f_n(t, x_1, \dots, x_n) \end{bmatrix}$$

nelinearna funkcija u varijablama x_1, \dots, x_n .

U nastavku želimo dobiti odgovore na pitanja koja se tiču svojstava rješenja sustava (1.4):

1. Postoje li ravnotežne vrijednosti

$$X^0 = \begin{bmatrix} x_1^0 \\ \vdots \\ x_n^0 \end{bmatrix}$$

za koje je $x(t) \equiv x^0$ rješenje sustava (1.5)?

2. Neka je $\varphi(t)$ rješenje sustava (1.5). Pretpostavimo da je $\phi(t)$ drugo rješenje, pri čemu je $\phi(0)$ jako blizu $\varphi(0)$, tj. $\phi_j(0)$ je jako blizu $\varphi_j(0)$, $j = 1, 2, \dots, n$. Hoće li $\phi(t)$ ostati blizu $\varphi(t)$ ubuduće, ili će se $\phi(t)$ razlikovati od $\varphi(t)$ kad $t \rightarrow +\infty$?
3. Što se događa s rješenjima $x(t)$ sustava (1.5) kad $t \rightarrow +\infty$? Približavaju li se sva rješenja ravnotežnim vrijednostima?

Na prvo pitanje možemo odmah odgovoriti. Primijetimo da je $\frac{dx}{dt} = 0$ ako je $x(t) \equiv x^0$. Dakle, x^0 je ravnotežna vrijednost sustava (1.5), ako i samo ako

$$f(t, x^0) \equiv 0. \quad (1.6)$$

U općenitom slučaju, odgovor na pitanje 2. je teško dati, zato što ne možemo riješiti (1.5). Jedini slučaj kada je to moguće učiniti je onda kada $f(t, x)$ ne ovisi o t ; tj. f je funkcija od x . Tada govorimo o *autonomnim* (ili *dinamičkim*) sustavima diferencijalnih jednadžbi. Međutim, čak i za autonomne diferencijalne jednadžbe, samo u dva slučaja, općenito, možemo dobiti zadovoljavajući odgovor.

Pitanje 3. od iznimne je važnosti u primjenama budući da odgovor donosi predviđanje koje se tiče dugoročne evolucije sustava koji se promatra.

1.3.1 Stabilnost linearnih sustava

Neka je $x = \phi(t)$ rješenje autonomnog sustava oblika

$$\frac{dx}{dt} = f(x). \quad (1.7)$$

Počet ćemo s formalnom definicijom stabilnosti.

Definicija 1.3.1. Rješenje $x = \phi(t)$ sustava (1.7) je stabilno ako svako rješenje $\psi(t)$ sustava (1.7) koje je dovoljno blizu $\phi(t)$ u $t = 0$ mora ostati blizu $\phi(t)$ za svaki t . Preciznije, rješenje $\phi(t)$ je stabilno ako za svaki $\epsilon > 0$ postoji $\delta = \delta(\epsilon)$ takav da vrijedi

$$|\psi_j(t) - \phi_j(t)| < \epsilon \text{ kad } |\psi_j(0) - \phi_j(0)| < \delta(\epsilon), \quad j = 1, 2, \dots, n.$$

za svako rješenje $\psi(t)$ sustava (1.7). [2]

Za linearne autonomne sustave oblika

$$\frac{dx}{dt} = A(x) \quad (1.8)$$

imamo sljedeći važan rezultat:

Teorem 1.3.2. 1. Svako rješenje $x = \phi(t)$ sustava (1.8) je stabilno ako sve svojstvene vrijednosti od A imaju negativan realni dio.

2. Svako rješenje $x = \phi(t)$ sustava (1.8) je nestabilno ako najmanje jedna svojstvena vrijednost od A ima pozitivan realni dio.

3. Pretpostavimo da sve svojstvene vrijednosti od A imaju realni dio ≤ 0 te da $\lambda_1 = i\sigma_1, \dots, \lambda_l = i\sigma_l$ uopće nemaju realnog dijela. Nadalje, neka $\lambda_j = i\sigma_j$ ima kratnost k_j , $j = 1, 2, \dots, l$. To znači da se karakteristični polinom od A može faktorizirati na sljedeći način

$$p(\lambda) = (\lambda - i\sigma_1)^{k_1} \dots (\lambda - i\sigma_l)^{k_l} q(\lambda),$$

gdje svi korijeni od $q(\lambda)$ imaju negativan realni dio. Tada svako rješenje od $x = \phi(t)$ sustava (1.7) je stabilno ako A ima k_j linearno nezavisnih svojstvenih vektora za svaku svojstvenu vrijednost $\lambda_j = i\sigma_j$. U protivnom, svako rješenje $x = \phi(t)$ je nestabilno (Dokaz u [2]).

Definicija 1.3.3. Rješenje $x = \phi(t)$ sustava (1.7) je asimptotski stabilno ako je stabilno i ako je svako rješenje $\psi(t)$ koje počinje dovoljno blizu $\phi(t)$ mora težiti $\phi(t)$ kad $t \rightarrow +\infty$. Drugim riječima, ravnotežno rješenje $x(t) = x^0$ od (1.7) je asimptotski stabilno ako svako rješenje $x = \psi(t)$ od (1.7) koje je dovoljno blizu x^0 u $t = 0$ ne samo da ostaje blizu x^0 ubuduće, već u konačnici postaje x^0 kad $t \rightarrow +\infty$.

Napomena 1.3.4. *Asimptotska stabilnost bilo kojeg rješenja $x = \phi(t)$ sustava (1.8) je očito ekvivalentna asimptotskoj stabilnosti ravnotežnog rješenja $x(t) \equiv 0$.*

1.3.2 Stabilnost nelinearnih sustava

U ovom odjeljku promatramo nelinearne sustave običnih diferencijalnih jednadžbi oblika

$$\left[\frac{dx}{dt} = f(x)\right]. \quad (1.9)$$

Prisjetimo se, nelinearni sustav diferencijalnih jednadžbi u kojem f ne ovisi o varijabli t , već samo x zovemo autonomnim ili dinamičkim sustavom.

Svaki sustav diferencijalnih jednadžbi $\dot{x} = f(t, x)$ možemo svesti na dinamički sustav, s tim što se broj nepoznatih funkcija i jednadžbi sustava povećava za jedan. Dovoljno je uvesti zamjenu $t = x_{n+1}$. Tada je

$$\frac{dx}{dt} = f(x_{n+1}, x), \quad \frac{dx_{n+1}}{dt} = 1.$$

Neka su funkcije $\frac{\delta f_i}{\delta x_j}(i, j = 1, 2, \dots, n)$ neprekidne na skupu $D \in \mathbb{R}^{n+1}$. Po Teoremu o egzistenciji i jedinstvenosti rješenja ², za svaki $(t_0, x_0) \in \mathbb{R} \times D$ sustav jednadžbi (1.5) ima jedinstveno rješenje

$$x = x(t), \quad (1.10)$$

$$x(t_0) = x_0$$

definirano na nekom intervalu I koji sadrži točku t_0 .

Rješenje (1.10), $t \in \mathbb{R}$ možemo promatrati kao smjer kretanja točke u prostoru \mathbb{R}^n . Krivulju

$$x = x(t), \quad t \in \mathbb{R}$$

nazivamo faznom trajektorijom, a sam prostor \mathbb{R}^n faznim prostorom.

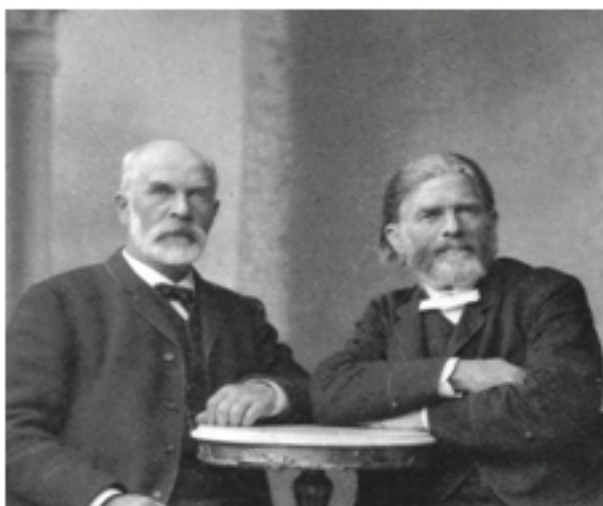
Specijalno, za $n = 2$ fazni prostor \mathbb{R}^2 nazivamo faznom ravninom.

Za rješenje $x = x(t)$, $t \in \mathbb{R}$ sustav jednadžbi (1.5) odgovarajuća fazna trajektorija je točka $x = x_0$ u faznom prostoru \mathbb{R}^n .

Definicija 1.3.5. *Točka $x_0 \in D$ u kojoj je $f(x_0) = 0$ nazivamo položajem ravnoteže ili točkom mirovanja sustava jednadžbi (1.5).*

Poglavlje 2

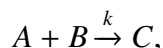
Zakon o djelovanju masa



Slika 2.1: Norvežani Cato Guldberg (1836.-1902.) i Peter Waage (1833.-1900.), profesori na Sveučilištu u Oslu koji su postavili zakon o djelovanju masa.

U drugoj polovici 19. stoljeća su norveški matematičar Cato M. Guldberg i kemičar Peter Waage zaključili da je ravnoteža kemijske reakcije uzrokovana "silama" koje djeluju u suprotnim smjerovima proporcionalna "aktivnim masama" reagirajućih tvari. Danas bismo "aktivne mase" zvali brojevnim ili množinskim koncentracijama. Ta njihova tvrdnja poznata je kao zakon o djelovanju masa. Za razliku od izvoda zakona brzine na temelju eksperimentalnih podataka, Guldberg-Waageov pristup omogućuje izvod zakona brzine na temelju jednadžbe reakcije uz pretpostavku da se radi o elementarnom procesu, tj. da reakcija zaista teče putem koji prikazuje jednadžba reakcije. Zakon o djelovanju masa opisuje brzinu interakcije kemijskih tvari u reakcijama. Po zakonu o djelovanju masa, pretpostavlja

se da različite molekule dolaze u kontakt prije same reakcije, te da je brzina kolizije direktno proporcionalna broju molekula svake od reagirajućih tvari. Pretpostavimo da dvije tvari A i B reagiraju, te da nastaje tvar C , što pišemo kao



gdje je k konstanta brzine reakcije. Radi jednostavnosti, koristit ćemo isti simbol C i za tvar C i za njenu koncentraciju. Zakon o djelovanju masa sada kaže da je derivacija dC/dt proporcionalna produktu koncentracija od A i B , sa konstantom proporcionalnosti k [3], tj.

$$\frac{dC}{dt} = kAB. \quad (2.1)$$

Slično, zakon o djelovanju masa omogućava postojanje jednadžbi za derivacije po vremenu koncentracija reaktanata A i B :

$$\frac{dA}{dt} = -kAB, \quad \frac{dB}{dt} = -kAB. \quad (2.2)$$

Primjetimo da, koristeći zakon o djelovanju masa s ciljem određivanja brzine promjene koncentracije, koncentracija tvari u koju strelica pokazuje raste (pozitivan predznak), a koncentracija tvari od kojih strelica kreće pada (negativan predznak). Produkt koncentracija na desnoj strani uvijek je jednak koncentraciji reaktanata (od kojih strelica sa sheme kreće) pomnožen s konstantom koja je na vrhu strelice. Jednakost (2.1) se može riješiti analitički koristeći zakone očuvanja. Svaki reaktant, bilo originalni bilo pretvoren u produkt, je očuvan jer se po jedna molekula svakog reaktanta pretvara u jednu molekulu produkta. Prema tome,

$$\frac{d}{dt}(A + C) = 0, \implies A + C = A_0$$

$$\frac{d}{dt}(B + C) = 0, \implies B + C = B_0$$

gdje su A_0 i B_0 početne koncentracije reaktanata, uz pretpostavku da na početku reakcije u smjesi nije bio prisutan produkt. Koristeći zakone očuvanja, (2.1) postaje

$$\frac{dC}{dt} = k(A_0 - C)(B_0 - C) \quad \text{gdje je } C(0) = 0,$$

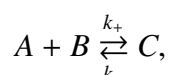
a to možemo lako riješiti separacijom varijabli:

$$C(t) = A_0 B_0 \frac{e^{(B_0 - A_0)kt} - 1}{B_0 e^{(B_0 - A_0)kt} - A_0}.$$

Dobiveni izraz je kompliciran, ali ima jednostavne limese

$$\lim_{t \rightarrow \infty} C(t) = \begin{cases} A_0 & \text{ako } A_0 \leq B_0 \\ B_0 & \text{ako } B_0 \leq A_0 \end{cases} \quad (2.3)$$

Reakcija prestaje čim se iscrpi jedan od reaktanata, a konačna koncentracija produkta je jednaka početnoj koncentraciji iscrpljenog reaktanta. Ako, nadalje, uvrstimo obratnu reakciju



tada je derivacija po vremenu produkta dana s

$$\frac{dC}{dt} = k_+AB - k_-C.$$

Primjetimo da k_+ i k_- imaju različite mjerne jedinice. U ravnotežnom stanju $C = 0$, koristeći zakone očuvanja $A + C = A_0$, $B + C = B_0$ dobivamo

$$(A_0 - C)(B_0 - C) - \frac{k_-}{k_+}C = 0$$

iz koje definiramo ekvilibrijsku konstantu K_{eq} s

$$K_{eq} = \frac{k_-}{k_+},$$

koja ima jediničnu mjeru koncentracije. Prema tome, u ravnotežnom stanju je koncentracija produkta dana rješenjem kvadratne jednadžbe:

$$C^2 - (A_0 + B_0 + K_{eq})C + A_0B_0 = 0,$$

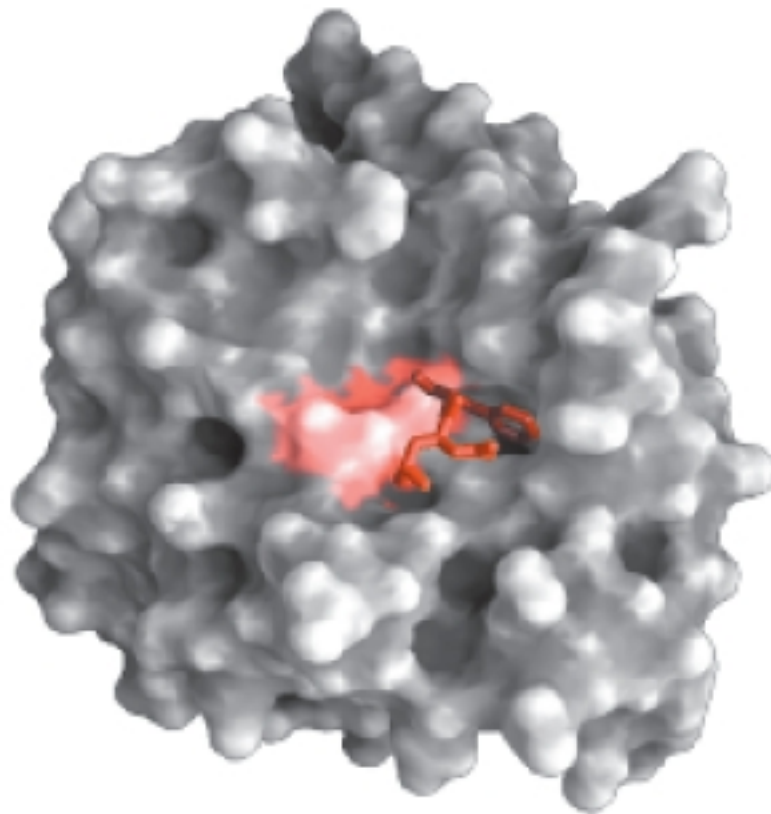
s dodatnim uvjetom $0 < C < \min(A_0, B_0)$. Primjerice, ako je $A_0 = B_0 = R_0$, tada u ravnotežnom stanju vrijedi

$$C = R_0 - \frac{1}{2}K_{eq}(\sqrt{1 + 4R_0/K_{eq}} - 1).$$

Ako je $K_{eq} \ll R_0$, tada A i B imaju visoku privlačnost i reakcija se nastavlja dok ne ostane skoro samo tvar C , sa $C \rightarrow R_0$.

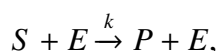
Poglavlje 3

Kinetika enzima



Slika 3.1: Enzim himotripsin sa vezanim supstratom - *Protein Data Bank, or PDB* (www.rcsb.org/pdb)

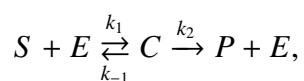
Enzimi su katalizatori, najčešće proteini, koji pomažu pretvoriti neke druge molekule, koje zovemo supstrati, u produkte, no pri toj reakciji oni sami ostaju nepromijenjeni. Svaki enzim je specijaliziran za barem jednu reakciju koju može ubrzati i do nekoliko milijuna puta [5]. Bez enzima, većina biokemijskih reakcija bile bi prespore da bi život uopće bio moguć. Enzimi su toliko važni za ljudski život, da jedna jedina mutacija aminokiseline u jednom enzimu (od preko 2000 enzima u našem tijelu) može biti uzrokom teške ili smrtne genetske bolesti. Enzimi ne podliježu zakonu o djelovanju masa u potpunosti: ako je S supstrat, P produkt i E enzim, reakcija



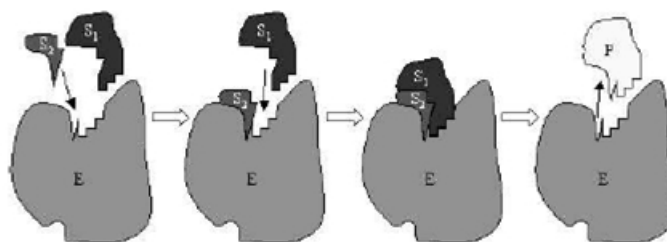
nije dobar model jer je poznato da brzina reakcije dP/dt ima konačan limes s obzirom na rastuću koncentraciju supstrata.

Godine 1913. Leonor Michaelis¹ i Maud Menten² predložili su jednostavan model za odvijanje enzimske reakcije. Prema tome modelu enzim E se spaja sa supstratom S i nastaje kompleks ES koji se može disocirati u E i S ili se može prevesti u E i produkt P . Ovaj najjednostavniji model objašnjava kinetička svojstva velikog broja enzima.

Radi se o shemi reakcije sa posrednom molekulom:



gdje je C kompleks formiran od enzima i supstrata.



Slika 3.2: Michaelis-Mentenova reakcija pri kojoj se dva supstrata pretvaraju u jedan produkt.

¹Leonor Michaelis (1875. - 1949.) njemački biokemičar i liječnik u znanstvenim krugovima poznat po svom radu na kinetici enzima.

²Maud Leonora Menten (1879. - 1960.) kanadska fizičarka - znanstvenica koja je uvelike pridonijela kinetici enzima i histologiji. 1912. godine se preselila u Berlin gdje je radila s Michaelisom.

Kod Michaelis-Mentenove reakcije između dva supstrata s katalizirajućim enzimom, slično kao i ranije, pretpostavljamo da se supstrat neprekidno dodaje u reakciju, a produkt neprekidno uklanja. Uklanjanje produkta je modelirano zanemarivanjem obratne reakcije $P + E \rightarrow C$. Neprekidno snabdjevanje supstratom omogućuje pretpostavku da je koncentracija od S otprilike konstantna.

Diferencijalne jednadžbe za C i P mogu se dobiti iz zakona o djelovanju masa:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S E - (k_{-1} + k_2) C,$$

$$\frac{dC}{dt} = k_2 C.$$

Biokemičari obično žele odrediti brzinu dP/dt reakcije u ovisnosti o koncentraciji supstrata S i totalnoj koncentraciji enzima E_0 . Možemo E zamijeniti s E_0 zbog zakona o očuvanju koji kaže da je enzim očuvan tj.

$$\frac{d(E + C)}{dt} = 0 \implies E + C = E_0 \implies E = E_0 - C.$$

Tada, eliminiravši E , možemo ponovno napisati jednadžbu za dC/dt :

$$\frac{dC}{dt} = k_1 S (E_0 - C) - (k_{-1} + k_2) C \quad (3.1)$$

$$= k_1 E_0 S - (k_{-1} + k_2 + k_1 S) C. \quad (3.2)$$

Kako smatramo da je S konstantna, očekujemo da će kompleks C biti u ravnotežnom stanju, s brzinom nastajanja jednako brzini razlaganja. Uz ovo takozvano kvazi-ekvilibrijsko stanje aproksimacije, možemo pretpostaviti da je $dC/dt = 0$ u 3.2 i imamo:

$$0 = k_1 E_0 S - (k_{-1} + k_2 + k_1 S) C,$$

$$k_1 E_0 S - (k_{-1} + k_2 + k_1 S) C = k_1 E_0 S,$$

$$C = \frac{k_1 E_0 S}{k_{-1} + k_2 + k_1 S}.$$

Brzina reakcije je onda dana s

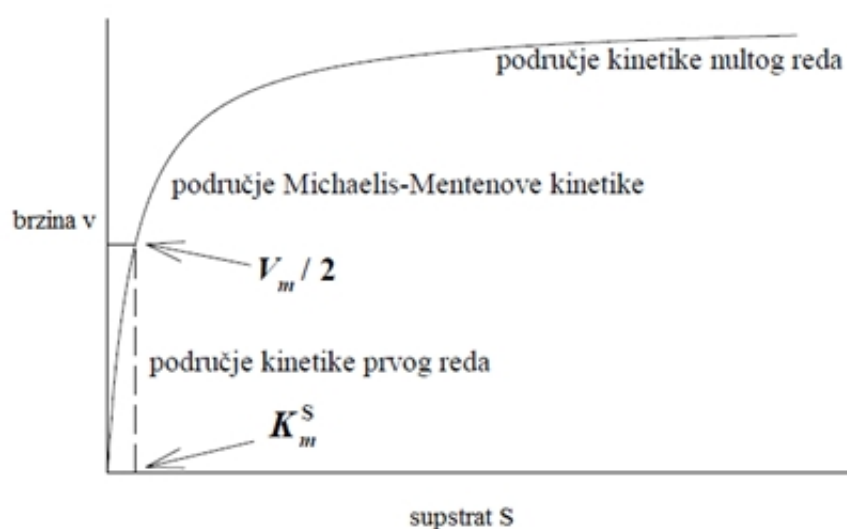
$$\frac{dP}{dt} = k_2 C = \frac{k_1 k_2 E_0 S}{k_{-1} + k_2 + k_1 S} = \frac{V_m S}{K_m + S}. \quad (3.3)$$

Ovisnost brzine enzimske reakcije iskazana je Michaelis-Mentenovom jednadžbom (3.3) gdje su definirane dvije fundamentalne konstante:

$$V_m = k_2 E_0 \quad \text{i} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}.$$

V_m je najveća moguća brzina reakcije koja se mogla (teoretski) postići kod određene koncentracije enzima. K_m je jednaka koncentraciji supstrata S kod koje je brzina reakcije jednaka polovici maksimalne brzine ($V_m/2$).

Dijagram ovisnosti brzine enzimske reakcije (v) o koncentraciji supstrata S za enzime koji slijede Michaelis-Menten kinetiku je hiperbolna krivulja (v. Sliku 3.3).



Slika 3.3: Dijagram ovisnosti brzine enzimske reakcije

Michaelis-Mentenova konstanta ili samo Michaelisova konstanta K_m ima jediničnu mjeru koncentracije, a maksimalna brzina reakcije V_m ima jediničnu mjeru koncentracije podijelenu s vremenom. Interpretacija ovih konstanti dobivena je promatranjem sljedećih limesa:

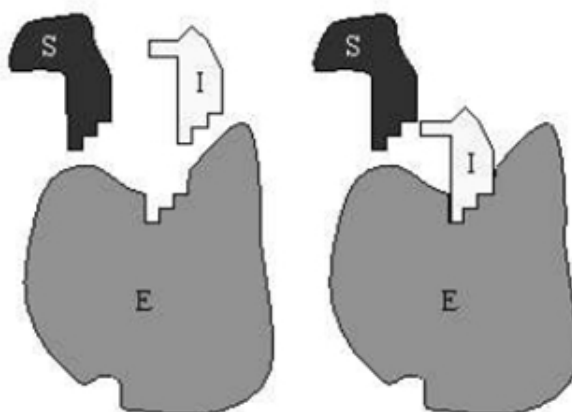
$$\text{kad} \quad S \rightarrow \infty \quad C \rightarrow E_0 \quad \text{i} \quad \frac{dP}{dt} \rightarrow V_m,$$

$$\text{ako} \quad S = K_m \quad C = \frac{1}{2} E_0 \quad \text{i} \quad \frac{dP}{dt} = \frac{1}{2} V_m.$$

Prema tome, V_m je granična brzina reakcije dobivena zasićivanjem supstratom tako da je svaki enzim u reakciji vezan; K_m je koncentracija od S pri kojoj se samo polovina prisutnih enzima veže i reakcija se provodi brzinom upola manjom od maksimalne brzine.

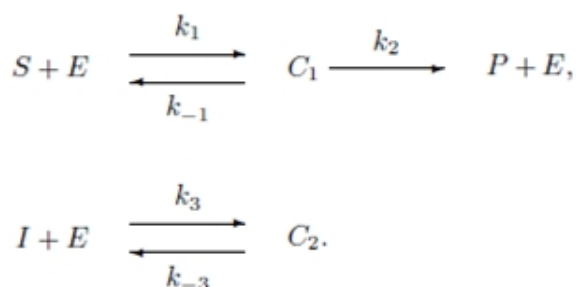
3.1 Kompetitivna inhibicija

Inhibitor (od latinske riječi *inhibere*: zadržati, priječiti) u biokemiji je tvar koja usporava kemijsku reakciju. Kompetitivni inhibitor je neki kemijski spoj po strukturi sličan supstratu koji se može smjestiti u aktivno mjesto enzima. Na nivou aktivnog mjesta enzima dolazi do natjecanja izmjenu supstrata i inhibitora. Kompetitivna inhibicija se pojavljuje kada se molekule-inhibitori natječu sa molekulama supstrata u vezanju za isto aktivno mjesto enzima. Kada je inhibitor vezan za enzim, ne stvara se produkt što znači da će kompetitivna inhibicija smanjiti brzinu reakcije. Skica ovog procesa je prikazan na Slici 3.4.

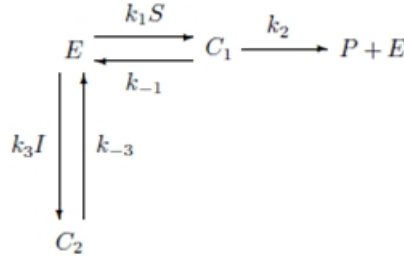


Slika 3.4: Kompetitivna inhibicija

Kako bismo modelirali kompetitivnu inhibiciju, uvodimo dodatnu reakciju povezanu s vezanjem inhibitora i enzima:



Uz složenije enzimске reakcije, shema reakcije postaje preteška za interpretaciju. Sljedeća shema omogućuje lakšu vizualizaciju reakcije:



Na shemi su radi preglednosti supstrat S i inhibitor I zapisani zajedno s odgovarajućim brzinskim konstantama. Iz druge sheme je odmah jasno da se inhibicija provodi izdvajanjem supstrata u obliku C_2 i onemogućavanjem njegovog sudjelovanja u katalizi reakcije S u P . Naš je cilj odrediti brzinu reakcije P' preko koncentracija supstrata i inhibitora, te totalne koncentracije enzima (i slobodnih i vezanih). Zakon o djelovanju masa primjenjen na koncentracije kompleksa i produkt nam daje sljedeći sustav:

$$\frac{dC_1}{dt} = k_1 S E - (k_{-1} + k_2) C_1, \quad (3.4)$$

$$\frac{dC_2}{dt} = k_3 I E - k_{-3} C_2, \quad (3.5)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2 C_1. \quad (3.6)$$

Količina enzima, slobodnih i vezanih, je očuvana pa imamo:

$$\frac{d}{dt}(E + C_1 + C_2) = 0 \implies E + C_1 + C_2 = E_0 \implies E = E_0 - C_1 - C_2.$$

Uz kvazi-ekvilibrijsku aproksimaciju $C_1 = C_2$, slijedi

$$k_1 S (E_0 - C_1 - C_2) - (k_{-1} + k_2) C_1 = 0,$$

$$k_3 I (E_0 - C_1 - C_2) - k_{-3} C_2 = 0.$$

a to povlači sljedeći sustav dviju linearnih jednadžbi s dvije nepoznanice C_1 i C_2 :

$$(k_{-1} + k_2 + k_1 S) C_1 + k_1 S C_2 = k_1 E_0 S, \quad (3.7)$$

$$k_3 C_1 + (k_{-3} + k_3 I) C_2 = k_3 E_0 I. \quad (3.8)$$

Definiramo Michaelis-Mentenovu konstantu K_m kao i ranije, te dodatnu konstantu K_i pridruženu inhibitorskoj reakciji

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad K_i = \frac{k_{-3}}{k_3}.$$

Dijeljenjem (3.7) s k_1 , te (3.8) s k_3 dobivamo

$$(K_m + S) C_1 + S C_2 = E_0 S, \quad (3.9)$$

$$I C_1 + (K_i + I) C_2 = E_0 I. \quad (3.10)$$

Kako je naš cilj dobiti izraz za brzinu reakcije (a za to nam je potreban C_1), množimo (3.9) s $(K_i + I)$ i (3.10) sa S te oduzmemo:

$$\begin{aligned} (K_m + S)(K_i + I) C_1 + S(K_i + I) C_2 &= E_0(K_i + I) S \\ S I C_1 + S(K_i + I) C_2 &= E_0 S I \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} ((K_m + S)(K_i + I) - S I) C_1 &= K_i E_0 S \\ (K_m K_i + K_m I + K_i S + S I - S I) C_1 &= K_i E_0 S \end{aligned}$$

$$C_1 = \frac{K_i E_0 S}{K_m K_i + K_i S + K_m I} = \frac{E_0 S}{K_m (1 + I/K_i) + S}$$

Prema tome, brzina reakcije je dana s

$$\frac{dP}{dt} = \frac{(k_2 E_0) S}{K_m (1 + I/K_i) + S} = \frac{V_m S}{K'_m + S} \quad (3.11)$$

gdje je

$$V_m = k_2 E_0, \quad K'_m = K_m (1 + I/K_i). \quad (3.12)$$

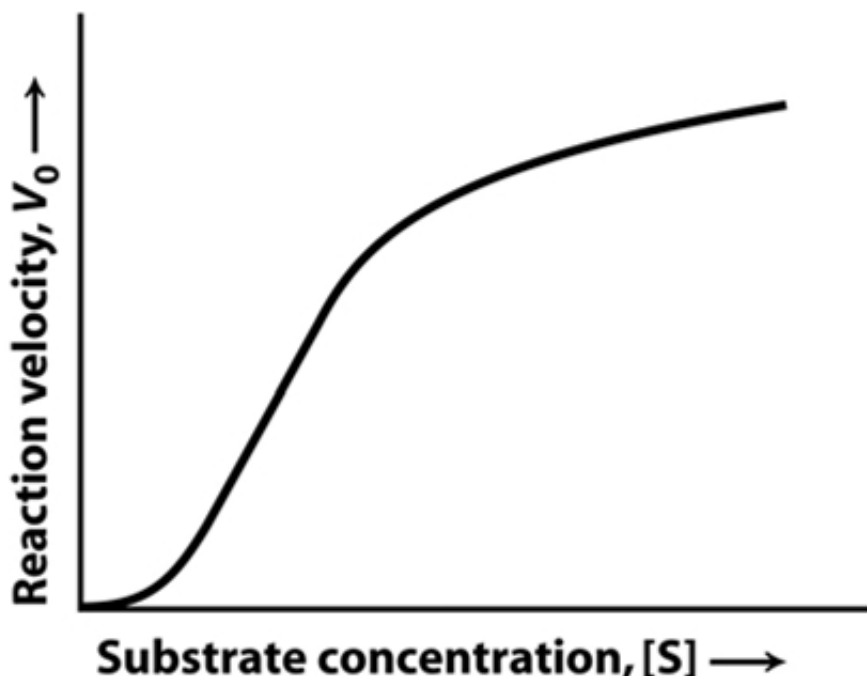
Usporedbom brzine inhibirane reakcije (3.11) i (3.9) s brzinom neinhibirane reakcije (3.3) i (3.7), primjećujemo da inhibicija povećava Michaelis-Mentenovu konstantu, ali ne mijenja maksimalnu brzinu reakcije. Kako je Michaelis-Mentenova konstanta definirana kao koncentracija supstrata potrebna za postići polovinu maksimalne brzine reakcije, dodavanje inhibitora sa fiksnom koncentracijom supstrata smanjuje brzinu reakcije. Međutim, reakcija zasićena supstratom i dalje postiže neinhibiranu maksimalnu brzinu reakcije.

3.2 Alosterička (nekompetitivna) inhibicija

Izraz alosterija dolazi od grčkih riječi *allos*, koja znači drugačiji, i *stereos*, koja znači čvrst, a odnosi se na enzime čija se regulatorna mjesta razlikuju od aktivnih mjesta.

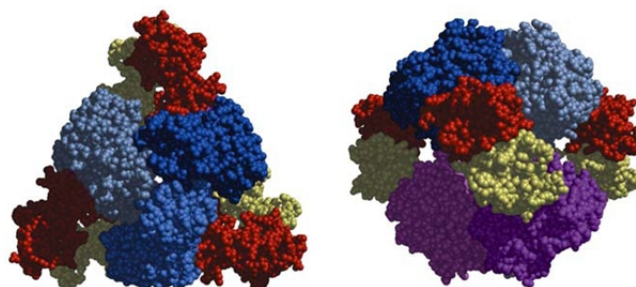
Alosterički enzimi su važna skupina enzima čija se katalitička aktivnost može regulirati. Oni reguliraju protok metabolita u metaboličkim putovima.

Ovi enzimi ne podliježu Michaelis -Menteninoj kinetici i imaju višestruka aktivna mjesta. Aktivna mjesta alosteričkih enzima djeluju kooperativno što se može uočiti iz sigmoidnog oblika krivulje brzine reakcije u ovisnosti o koncentraciji supstrata (Slika 3.5). Regulacijski alosterički regulatori mogu ili stimulirati ili inhibirati enzimsku aktivnost.



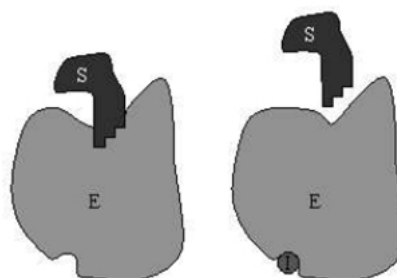
Slika 3.5: Michaelis-Mentenovim modelom ne možemo opisati alosteričke enzime. Alosteričke enzime prepoznavamo prema sigmoidnom obliku krivulje.

Aspartat transkarbamoilaza je primjer alosteričkog regulacijskog enzima. Tri su regulacijske podjedinice prikazane žutom i crvenom bojom, dok su tri katalitičke podjedinice prikazane plavim i ljubičastim bojama (Slika 3.6).



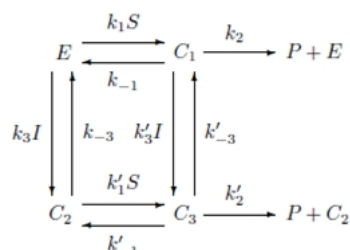
Slika 3.6: Aspartat transkarbamoilaza; primjer alosteričkog regulacijskog enzima.

U našem modelu alosteričke inhibicije, pretpostavljamo da se inhibitorske molekule vežu na vlastita regulatorna mjesta na enzimu, što rezultira ili sa smanjenim afinitetom vezanja supstrata na enzim, ili sa smanjenom brzinom pretvorbe supstrata u produkt. Skica alosteričke inhibicije uzrokovane slabijim afinitetom vezanja dan je na Slici 3.7.

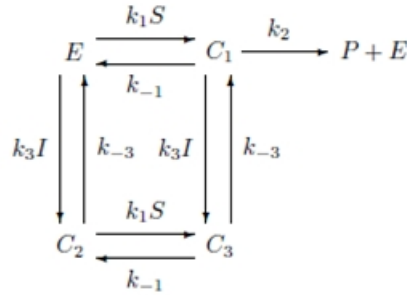


Slika 3.7: Alosterička inhibicija

Općenito, trebamo definirati tri kompleksa: neka je C_1 kompleks formiran supstratom i enzimom, C_2 formiran inhibitorom i enzimom, a C_3 supstratom, inhibitorom i enzimom. Kemijsku reakciju zapisujemo na sljedeći način:



Opći model alosteričke inhibicije s deset različitih brzinskih konstanti je prekomplikiran za analizu pa ga pojednostavljujemo do modela s manje konstanti koji i dalje prikazuje jedinstvena svojstva alosteričke inhibicije. Jedno moguće, no nezanimljivo pojednostavljenje pretpostavlja da ako se I veže za E , S se tada ne veže za E , no tada se alosterička inhibicija reducira na kompetitivnu. Zato uzimamo da se i I i S mogu istovremeno vezati za E , ali vezani inhibitor onemogućuje pretvorbu supstrata u produkt. Uz ovakvo pojednostavljenje imamo $k'_2 = 0$. Da bismo još smanjili broj nezavisnih brzinskih konstanti, pretpostavljamo da S ne utječe na vezanje I na E , i obrnuto, da vezanje od I ne utječe na vezanje od S na E . Ovo povlači da su sve početne brzinske konstante jednake brzinskim konstantama u odgovarajućim reakcijama koje uključuju inhibitor, npr. $k_1 = k'_1$ itd. Uz ova pojednostavljenja, shema reakcije postaje



Sada imamo samo pet nezavisnih brzinskih konstanti. Pišemo jednadžbe za komplekse koristeći zakon o djelovanju masa:

$$\frac{dC_1}{dt} = k_1 S E + k_{-3} C_3 - (k_{-1} + k_2 + k_3 I) C_1, \quad (3.13)$$

$$\frac{dC_2}{dt} = k_3 I E + k_{-1} C_3 - (k_{-3} + k_1 S) C_2, \quad (3.14)$$

$$\frac{dC_3}{dt} = k_3 I C_1 + k_1 S C_2 - (k_{-1} + k_{-3}) C_3, \quad (3.15)$$

pri čemu je brzina reakcije dana s

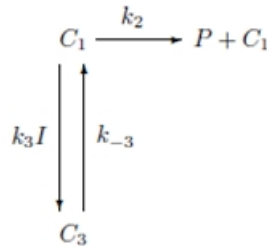
$$\frac{dP}{dt} = k_2 C_1. \quad (3.16)$$

Kao i ranije, slobodni i vezani enzimi su očuvani pa je $E = E_0 - C_1 - C_2 - C_3$. Uz kvazi - ekvilibrijsku aproksimaciju $C_1 = C_2 = C_3 = 0$, dobivamo sustav od tri jednadžbe s tri nepoznanice C_1, C_2, C_3 . Unatoč našem pojednostavljenju, analitičko rješenje za brzinu

reakcije je još uvijek tehnički komplicirano, a nije osobito poučno. Zato preskačemo analitički rezultat i određujemo samo maksimalnu brzinu reakcije. Maksimalna brzina reakcije V'_m za alosterički inhibiranu reakciju je definirana kao derivacija po vremenu produkta koncentracija kada je reakcija zasićena supstratom, tj.

$$V'_m = \lim_{S \rightarrow \infty} \frac{dP}{dt} = k_2 \lim_{S \rightarrow \infty} C_1.$$

Kako imamo zasićenje supstratom, aktivno mjesto na svakom enzimu će biti zauzeto veznim molekulama supstrata. Enzimi su ili vezani samo sa supstratom u kompleksu C_1 , ili vezani i sa supstratom i sa inhibitorom u kompleksu C_3 . Prema tome, shema reakcije se pojednostavljuje na:



Jednadžbe za C_1 i C_3 uz zasićenje supstratom su dane s

$$\frac{dC_1}{dt} = k_{-3}C_3 - k_3IC_1, \quad (3.17)$$

$$\frac{dC_3}{dt} = k_3C_1 - k_{-3}C_3, \quad (3.18)$$

a iz kvazi-ekvilibrijske aproksimacije proizlazi nezavisna jednadžba:

$$C_3 = \frac{k_3}{k_{-3}}IC_1 = \frac{I}{K_i}IC_1 \quad (3.19)$$

s $K_i = k_{-3}/k_3$ kao i ranije. Jednadžba koja izražava očuvanje enzima je dana s $E_0 = C_1 + C_3$. Ovaj zakon očuvanja, zajedno s (3.19), omogućava nam rješenje za C_1 :

$$C_1 = \frac{E_0}{1 + I/K_i}.$$

Prema tome, maksimalna brzina reakcije za alosterički inhibiranu reakciju je dana s

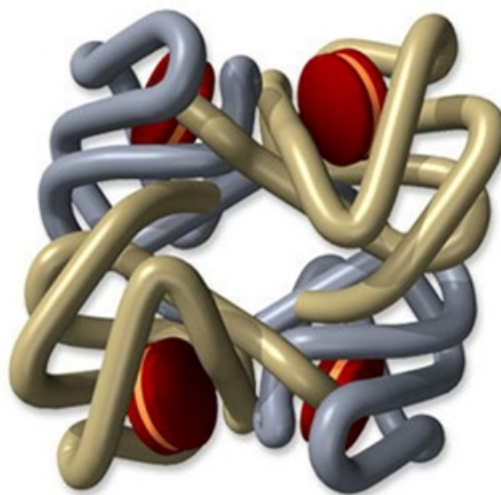
$$V'_m = \frac{k_2 E_0}{1 + I/K_i},$$

$$V'_m = \frac{V_m}{1 + I/K_i},$$

gdje je V_m maksimalna brzina reakcije neinhibirane, a kako smo vidjeli ranije, i kompetitivno inhibirane reakcije. Vidimo sada da alosterički inhibitor smanjuje maksimalnu brzinu neinhibirane reakcije za faktor $(1 + I/K_i)$, koji može biti velik ukoliko je koncentracija alosteričkog inhibitora znatna.

3.3 Kooperativnost

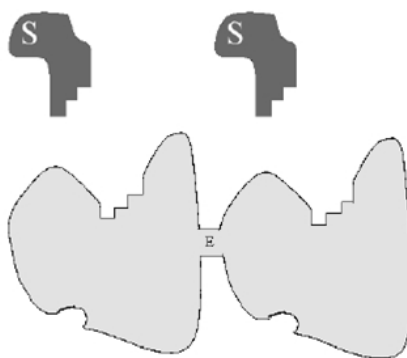
Kooperativnost je fenomen koji manifestiraju enzimi ili receptori koji imaju višestruka mjesta vezanja gdje se afinitet mjesta vezanja za ligand (atom ili molekula koja je preko neke koordinativne veze koordinirana na centralni metalni ion) povećava, pozitivna kooperativnost, ili smanjuje, negativna kooperativnost, nakon vezanja liganda za jedno od mjesta vezanja [7]. Enzimi i ostali proteinski kompleksi mogu imati više aktivnih mjesta, i kada se supstrat veže na neko od tih lokacijskih mjesta, ostala mjesta mogu postati aktivnija. Dobro proučeni primjer je vezanje molekula kisika na protein hemoglobin (Slika 3.8). Vezanje molekula kisika na protein hemoglobin je kooperativno. Hemoglobin može vezati četiri molekule kisika O_2 i kada su tri molekule vezane, četvrta molekula ima povećani afinitet vezanja što omogućava transport bitno većih količina kisika u tkiva.



Slika 3.8: Vezanje molekula kisika na protein hemoglobin.

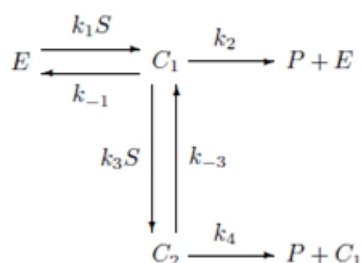
Modelirat ćemo kooperativnost s pretpostavkom da enzim ima dva odvojena, ali identična aktivna mjesta za supstrat S . Na primjer, enzim može biti proteinski dimer, tj. mole-

kula sastavljena od dva identična potproteina, pa tada enzim ima dva ista aktivna mjesta za S . Skica ovakvog enzima dana je na Slici 3.9.



Slika 3.9: Kooperativnost.

Kako se dva aktivna mjesta ni po čemu ne razlikuju, trebamo promatrati samo dva kompleksa: C_1 i C_2 , s enzimom vezanim uz jednu, odnosno dvije molekule supstrata redom. Kada enzim pokazuje kooperativnost, vezanje druge molekule supstrata ima veću brzinsku konstantu nego vezanje prve molekule. Prema tome promatramo sljedeću reakciju:



pri čemu kooperativnost zahtjeva $k_1 \ll k_3$. Iskoristimo zakon o djelovanju masa i dobivamo:

$$\frac{dC_1}{dt} = k_1 S E + (k_{-3} + k_4) C_2 - (k_{-1} + k_2 + k_3 S) C_1,$$

$$\frac{dC_2}{dt} = k_3 S C_1 - (k_{-3} + k_4) C_2.$$

Kvazi-ekvilibrijska aproksimacija $C_1 = C_2 = 0$ i zakon očuvanja $E_0 = E + C_1 + C_2$ povlače sljedeći sustav od dvije jednačbe s dvije nepoznanice:

$$(k_{-1} + k_2 + (k_1 + k_3)S)C_1 - (k_{-3} + k_4 - k_1S)C_2 = k_1E_0S, \quad (3.20)$$

$$k_3SC_1 - (k_{-3} + k_4)C_2 = 0. \quad (3.21)$$

Podijelimo (3.20) s k_1 i (3.21) s k_3 , te definiramo

$$K_1 = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad K_1 = \frac{k_{-3} + k_4}{k_3}, \quad \epsilon = \frac{k_1}{k_3}. \quad (3.22)$$

Dobivamo jednakosti:

$$(\epsilon K_1 + (1 + \epsilon)S)C_1 - (K_2 - \epsilon S)C_2 = \epsilon E_0S, \quad (3.23)$$

$$SC_1 - K_2C_2 = 0. \quad (3.24)$$

Možemo oduzeti (3.23) od (3.24) i eliminirati ϵ da bismo dobili

$$(K_1 + S)C_1 + SC_2 = E_0S. \quad (3.25)$$

Riješimo sustav jednačbi (3.24) i (3.25) i dobivamo izraze za C_1 i C_2 :

$$C_1 = \frac{K_2E_0S}{K_1K_2 + K_2S + S^2}, \quad (3.26)$$

$$C_2 = \frac{E_0S^2}{K_1K_2 + K_2S + S^2}, \quad (3.27)$$

pa je brzina reakcije dana s

$$\frac{dP}{dt} = k_2C_1 + k_4C_2 = \frac{(k_2K_2 + k_4S)E_0S}{K_1K_2 + K_2S + S^2}.$$

Da bismo rasvjetili ovaj rezultat promatrat ćemo dva granična slučaja:

- i) nema kooperativnosti, pri čemu aktivna mjesta djeluju nezavisno, pa svaki proteinski dimer možemo shvatiti kao dva nezavisna proteinska monomera;
- ii) jaka kooperativnost, gdje vezanje druge molekule supstrata ima značajno veću brzinu konstantu od konstante prve molekule.

3.3.1 Nezavisna aktivna mjesta (nema kooperativnosti)

Slobodni enzim E ima dva nezavisna aktivna mjesta, dok C_1 ima samo jedno aktivno mjesto. Promotrimo shemu reakcije: k_1 je brzinska konstanta za vezanje supstrata S na dva nezavisna aktivna mjesta; k_{-1} i k_2 su brzinske konstante za odvajanje od enzima i pretvorbu u produkt jedne molekule supstrata; k_3 je brzinska konstanta vezanja supstrata za jedno aktivno mjesto; k_{-2} i k_4 su brzinske konstante za odvajanje i pretvorbu dviju nezavisnih molekula supstrata. Uzevši u obzir nezavisnost, imamo:

$$k_1 = 2k_3, \quad k_{-3} = 2k_{-1}, \quad k_4 = 2k_2.$$

Definiramo Michaelis-Mentenovu konstantu K_m koja reprezentira proteinski monomer s jednim aktivnim mjestom, pa imamo:

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{\frac{k_1}{2}} = 2K_1 = \frac{1}{2}K_2. \quad (3.28)$$

Prema tome, za nezavisna aktivna mjesta, brzina reakcije postaje:

$$\begin{aligned} \frac{dP}{dt} &= \frac{(2k_2K_m + 2k_2S)E_0S}{K_m^2 + 2K_mS + S^2} = \frac{2k_2E_0S}{K_m + S} \\ &= \frac{2k_2E_0S}{K_m + S}. \end{aligned} \quad (3.29)$$

Brzina reakcije za dimer proteinskog enzima sastavljenog od dva nezavisna identična monomera je jednostavno dvostruka brzina reakcije za monomer proteinskog enzima, što smo intuitivno i očekivali.

3.3.2 Jaka kooperativnost

Sada pretpostavljamo da se, nakon što se prva molekula supstrata veže za enzim, druga molekula veže puno lakše pa imamo $k_1 \ll k_3$. Broj enzima vezanih za jednu molekulu supstrata bi prema tome trebao biti puno manji od broja enzima vezanih za dvije molekule supstrata, što povlači $C_1 \ll C_2$. Podijelimo li (3.26)

$$C_1 = \frac{K_2E_0S}{K_1K_2 + K_2S + S^2},$$

s (3.27)

$$C_2 = \frac{E_0S^2}{K_1K_2 + K_2S + S^2},$$

nalazimo

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{K_2}{S} \ll 1.$$

Podijelimo li brojnik i nazivnik u (3.3)

$$\frac{dP}{dt} = k_2 C_1 + k_4 C_2 = \frac{(k_2 K_2 + k_4 S) E_0 S}{K_1 K_2 + K_2 S + S^2} \quad (3.30)$$

s S^2 dobivamo

$$\frac{dP}{dt} = \frac{(k_2 K_2/S + k_4) E_0}{(K_1/S)(K_2/S) + (K_2/S) + 1}.$$

Da bismo dobili limes ovog izraza kada K_2/S teži u nulu, stavimo $K_2/S = 0$ svugdje osim u zadnjem članu nazivnika, jer je K_1/S obrnuto proporcionalan s k_1 pa bi limes mogao otići u beskonačnost. Dobivši limes, pomnožimo brojnik i nazivnik s S^2 :

$$\frac{dP}{dt} = \frac{k_4 E_0 S^2}{K_1 K_2 + S^2}.$$

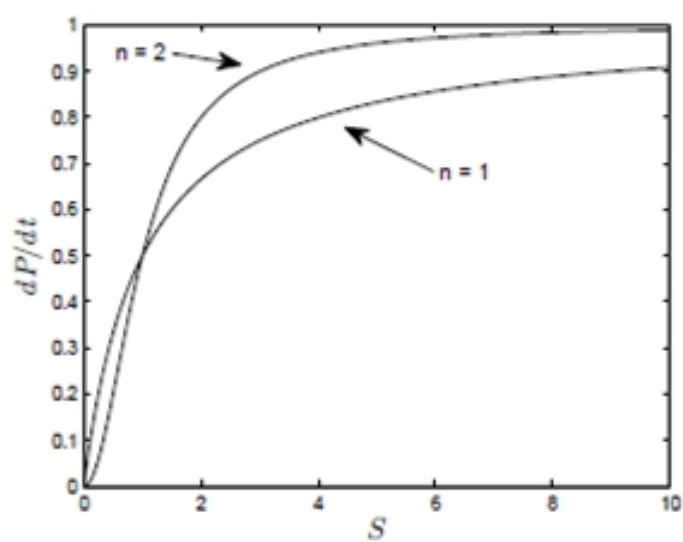
Ovdje je maksimalna brzina reakcije $V_m = k_4 E_0$ i modificirana Michaelis-Mentenova konstanta $K_m = \sqrt{K_1 K_2}$ pa imamo

$$\frac{dP}{dt} = \frac{V_m S^2}{K_m^2 + S^2}.$$

U biokemiji, ova brzina reakcije se generalizira na

$$\frac{dP}{dt} = \frac{V_m S^n}{K_m^n + S^n}$$

i poznata je kao Hillova jednadžba, a uvrštavanjem različitih n se podešava jednadžbu eksperimentalnim podacima. Na Slici 3.10 se vidi graf ovisnosti brzine reakcije o koncentraciji supstrata S , dobiven iz Hillove jednadžbe za $n = 1$ i 2 . Na slici je uzeto da su V_m i K_m jednake 1. Jasno je da se povećavanjem broja n brzina reakcije brže približava svojoj maksimalnoj vrijednosti.



Slika 3.10: Brzina reakcije dP/dt kao funkcija suptrata S . Pokazana su rješenja Hillove jednačbe za $V_m = 1$, $K_m = 1$ uz $n = 1, 2$.

Bibliografija

- [1] M.Alić, *Obične diferencijalne jednačbe*, skripta PMF-MO, 2001.
- [2] M.Braun, *Differential Equations and Their Applications*, 3rd Edition, Springer-Verlag, 1986.
- [3] J.R.Chasnov, *Mathematical Biology*, Lecture Notes, The Hong Kong University of Science and Technology, 2009
- [4] G.Lončar, *Modeliranje u hidrotehnici*, skripta za internu upotrebu, Građevinski fakultet, Zagreb, 2009.
- [5] M.Miloš, *Osnove biokemije*, skripta za internu upotrebu, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Zavod za biokemiju, Split, 2009.
- [6] *Obične diferencijalne jednačbe*, prelog.chem.pmf.hr/~fmbruckler/odj.pdf, preuzeto 10.06.2014.
- [7] *Kooperativnost (Biohemija)* – Wikipedia, [http://sv.wikipedia.org/wiki/Kooperativnost_\(Biohemija\)](http://sv.wikipedia.org/wiki/Kooperativnost_(Biohemija)), preuzeto 10.06.2014.

Sažetak

U ovom diplomskom radu prezentirani su matematički modeli biokemijskih reakcija kataliziranih enzimima. U Poglavlju 1 govorili smo o važnosti matematičkog modela te smo opisali glavna svojstva sustava običnih diferencijalnih jednažbi. Poglavlje 2 posvećeno je uvođenju veoma korisnog modela za kemijske reakcije, zakona o djelovanju masa, koji opisuje brzinu interakcije kemijskih tvari u reakcijama i koji smo koristili u nastavku rada. U Poglavlju 3, koristeći matematički model kinetike enzima, promatrali smo tri fundamentalna enzimska svojstva: kompetitivnu (konkurentnu) inhibiciju, nekompetitivnu (alosteričku) inhibiciju te kooperativnost. Modele smo zapisali pomoću jednostavnih sustava običnih diferencijalnih jednažbi.

Summary

In this work we present various mathematical models describing biochemical reactions catalyzed by the enzymes. Chapter 1 deals with the definition of the mathematical model and the main properties concerning the systems of ordinary differential equations. Chapter 2 introduces the law of mass action, a very useful model for chemical reactions, which describes the rate of interaction of chemical substances in the reactions, and which has later been extensively used in the work. Chapter 3, by using the mathematical model of kinetics of enzymes, examines three fundamental features of enzymes: competitive inhibition, non-competitive (allosteric) inhibition and cooperation. Models are described by using simple systems of ordinary differential equations.

Životopis

Rođena sam 28. veljače 1987. u Čapljini (Bosna i Hercegovina). Svoje obrazovanje započela sam 1993. godine u Osnovnoj školi „Lipanske zore“ u Višićima. Godine 2001. upisala sam Prirodoslovno - matematičku gimnaziju u Metkoviću. Maturirala sam 2005. godine i u srpnju te iste godine upisala Preddiplomski sveučilišni studij matematike, na Prirodoslovno - matematičkom fakultetu u Zagrebu. Godine 2008. upisala sam Preddiplomski sveučilišni studij matematike; smjer nastavnički, kojeg sam završila 2010. godine. Iste te godine upisala sam Diplomski sveučilišni studij matematike; smjer nastavnički na Prirodoslovno - matematičkom fakultetu u Zagrebu.